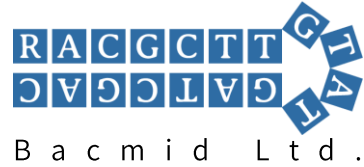


Bacmid qBac-III 简要手册



V1.4.2 2018.10

本产品包含

qBac-III (Bacmid DNA, 每次转染使用 40ng [5 μ L], 浓度 8ng/ μ L)

Control plasmid* (阳性对照转移载体质粒 DNA, 每次转染使用 300ng [3 μ L], 浓度 100ng/ μ L)

使用者需要准备

1. 转染试剂
2. 昆虫细胞培养基 (加 100UI/ml 氨苄青霉素和 100UI/ml 链霉素)
3. 六孔板或 35mm 细胞培养皿, 每孔 (皿) 铺 1×10^6 个 Sf9 细胞 (2mL)
4. 带有目的基因片段的转移载体质粒** (每次转染需要 300ng)

程序*** (以 Promega FuGENE HD Transfection Reagent 转染试剂为例, 其他转染试剂请参照具体使用说明)

A) 准备转染 DNA 混合物

1. 向无菌的 1.5mL 离心管中加入 95 μ L ddH₂O (或无血清培养基), 再向离心管中加入 5 μ L Promega FuGENE HD Transfection Reagent 转染试剂, 充分混匀。
2. 向无菌的 1.5mL 离心管中加入 92 μ L ddH₂O (或无血清培养基), 再向离心管中加入 5 μ L Bacmid DNA, 再向离心管中加入 3 μ L 转移载体质粒 DNA, 充分混匀。
3. 将 (1) 中溶液加入 (2) 中, 充分混匀, 室温静置 20-30 min。

B) 将 DNA 混合物加到细胞中

1. 将 DNA 混合物逐滴均匀加入细胞培养皿中。
2. 放置 28 $^{\circ}$ C 培养箱中静置培养 4-6 天。

C) 收获 P0 代病毒

1. 收集培养皿中的培养基 (上清), 4 $^{\circ}$ C 避光保存。此即为 P0 代病毒。

D) 表达蛋白

1. 用 20-200 μ L P0 代病毒加到铺好细胞的六孔板的一个孔中, 28 $^{\circ}$ C 静置培养 4 天, 收集培养皿中的培养基 (上清), 300 X g 离心 5min 移除细胞碎片, 获得 P1 代病毒, 测定滴度 (方法自选)。4 $^{\circ}$ C 避光保存。
2. 用 P1 代病毒以 3MOI 感染 Sf9 细胞, 至感染后 4-5 天收集蛋白。

* Control plasmid 带有 p10 启动子控制的 EGFP 基因, 转染 48 小时后出现的绿色荧光细胞代表病毒重组成功。

** 转移载体质粒可选用我公司产品, 或选用 pOET、pBac、pTriEx、pIEx 等兼容性质粒。

*** 上述程序仅为推荐程序, 使用者可以根据以往经验进行调整。

陕西杆粒生物科技有限公司

公司网址: <http://bacmid.com>

技术支持: help@bacmid.com

本产品仅供实验室使用
工业及商业用途需要获得我公司授权